

Untersuchungen über die Wirkung
von Pyrophosphat auf das Verhalten
von Mikroorganismen

Karl Heinz Wirz

1964

Aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Professor Dr. L. Kotter

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WIRKUNG VON PYROPHOSPHAT
AUF DAS VERHALTEN VON MIKROORGANISMEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Karl Heinz Wirz
aus
Kaiserslautern

München 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. A. Meyn
Referent: Professor Dr. L. Kotter

Tag der Promotion: 26. Juli 1961



UNI-Druck, München 13, Amalienstraße 85

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung	1
B. Literatur	2
C. Eigene Untersuchungen	4
I. Versuche über den Einfluß von Natrium- pyrophosphat auf die Hitzeresistenz von Mikroorganismen	4
1. Einfluß von Natriumpyrophosphat auf die Hitzeresistenz von <i>Salmonella typhimurium</i>	4
2. Einfluß von Natriumpyrophosphat auf die Hitzeresistenz von <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	7
3. Einfluß von Natriumpyrophosphat auf die Hitzeresistenz von <i>Staphylococcus aureus</i>	11
4. Einfluß von Natriumpyrophosphat auf die Hitzeresistenz einer <i>Micrococcus</i> -Art (Stamm M 53 Niinivaara)	15
5. Einfluß von Natriumpyrophosphat auf die Hitzeresistenz von <i>Streptococcus faecalis</i>	17
6. Einfluß von Natriumpyrophosphat auf die Hitzeresistenz von <i>Bac. cereus</i>	19
II. Einfluß von Phosphatfibrisol und Natriumzitat auf das Überleben der Keime bei der Herstel- lung von Trockenblutplasma	20
III. Einfluß von Natriumpyrophosphat auf lebende Keime ohne Hitzeeinwirkung	21
1. Lebensfähigkeit von <i>Staph. aureus</i> in natrium- pyrophosphathaltiger Nährbouillon	21
2. Bestimmung der Lebensfähigkeit von <i>Staph.</i> <i>aureus</i> bei Anwesenheit von Natriumpyro- phosphat mittels Agardiffusionstest (Lochtest)	22

	Seite
a) Wirkung des Natriumpyrophosphates auf wachsende Keime	23
b) Wirkung von Natriumpyrophosphat auf bereits gewachsene Kulturen	23
3. Quellungsversuch	24
D. Diskussion	27
E. Zusammenfassung	29
F. Literaturverzeichnis	30
Lebenslauf	35

A. EINLEITUNG

Frühere Untersuchungen am Institut (14, 35) haben ergeben, daß die Hitze-resistenz von Bakterien durch Natrium-pyrophosphat vermindert wird. Diese Resistenzabnahme ist im Hinblick auf eine eventuelle Verwendung von Pyrophosphaten bei der Fleisch- und Wurstherstellung von besonderer Bedeutung.

Mir wurde die Aufgabe zugewiesen, in Fortsetzung dieser Arbeiten den Einfluß von Natrium-pyrophosphat auf die Hitze-resistenz von Bakterien im Modell weiter zu verfolgen und auch einen praktischen Fall zu prüfen und zwar die Verhältnisse bei der Herstellung von Trockenblutplasma. Ferner sollte das Verhalten verschiedener Keime in natrium-pyrophosphathaltigem Milieu unter sonst optimalen Wachstumsbedingungen studiert werden.

B. LITERATUR

Das einschlägige Schrifttum über den Einfluß der Temperatur auf Mikroorganismen, über deren Hitzeresistenz und die Beeinflussung der Hitzeempfindlichkeit durch das Milieu wurde von Wollmann (35) bereits eingehend besprochen, so daß es hier genügt, eine Übersicht durch neuere Literatur zu ergänzen.

I. Allgemeines über den Einfluß der Temperatur auf Mikroorganismen

Mikroorganismen haben einen bestimmten Temperaturbereich, der für ihr Wachstum optimal ist. Außerhalb dieses Temperaturbereiches können die Keime in ihrem Wachstum gehemmt und schließlich abgetötet werden. Die Abtötungstemperatur kann auch bei Mikroorganismen einer Art verschieden sein (8, 5, 22). Keime, die bei höheren Temperaturen gezüchtet werden, sind gegen Hitze resistenter als die bei niedrigeren Temperaturen gezüchteten (1). Die Hitzeempfindlichkeit wächst bei Bakterien mit dem Alter der Kulturen (19, 30).

II. Hitzeresistenz von Mikroorganismen und ihre Beeinflussung durch das Milieu

Von besonderer Bedeutung für die Hitzeresistenz der Mikroorganismen ist der Wassergehalt der Keime und des Milieus. Trockene Erhitzung bzw. Erhitzung in trockenem Milieu erhöhen die Hitzeresistenz (28, 19, 31, 7, 1). Je dichter die Bakterienaufschwemmung, desto geringer ist die Hitzeempfindlichkeit (11). Außerdem wurden nicht näher analysierte, von den Keimen abgesonderte, filterbare Schutzstoffe nachgewiesen, welche die Widerstandsfähigkeit der Keime gegen Hitze steigern (11, 19). Öle und Fette erhöhen die Hitzeresistenz von Mikroorganismen ebenso (15, 28, 31, 32, 36), wie Proteine (29, 34, 9, 25, 1). Auch eine Verschiebung des pH -Wertes kann die Hitzeresistenz von Keimen beeinflussen (18, 19, 6). In zahlreichen Versuchen wurde auch der Einfluß von Salzen auf Mikroorganismen geprüft (17, 27, 3, 21, 26, 4, 24, 6, 20, 35). Dabei zeigte sich, daß ein bestimmtes Verhältnis von Kationen und Anionen für das Verhalten der Keime entscheidend ist. Durch die Salze wird der Quellungszustand der Keime und damit auch ihre Hitzeresistenz geändert (28, 31, 7, 2, 3, 33). Kotter und Terplan (14) sowie Wollmann (35) berichteten ebenfalls über die Änderung der Hitzeresistenz von

Mikroorganismen durch verschiedene Salze. Es wurde die Wirkung von Natriumzitat, Natriumpyrophosphat, Grahamschem Salz, Brätfibrisol, Blutfibrisol, Natriumnitrit, Natriumnitrat, Nitritpökelsalz, Kaliumjodid und Kaliumrhodanid auf Salmonellen, Rotlaufbakterien und Tuberkulosebakterien geprüft. Besonders auffallend war die stark resistenzerhöhende Wirkung von Nitritpökelsalz, während Natriumpyrophosphat und Kaliumjodid die Hitzeresistenz der untersuchten Keime stark herabsetzten. Bei den in Bouillon erhitzten Keimen erhöhte Nitritpökelsalz in 10 %iger Konzentration die Lebensdauer von Salmonellen bei 54° C gegenüber den Kontrollen um 14 Minuten und von Rotlaufbakterien bei 51° C um 6 Minuten. Natriumpyrophosphat verringerte in 0,5 %iger Konzentration unter sonst gleichen Bedingungen die Lebensdauer von Salmonellen um 5 Minuten, von Rotlaufbakterien um 8 Minuten. Kelch und Bühlmann (12) untersuchten die Wirkung der Phosphatpräparate Curafos und Fibrisol der Fa. Benckiser, Ludwigshafen auf verschiedene Mikroorganismen. Durch diese Phosphate wurde die Hitzeresistenz der Keime herabgesetzt; vegetative Formen von *Bac. subtilis* wurden sogar ohne Hitzeeinwirkung abgetötet.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Versuche über den Einfluß von Natriumpyrophosphat auf die Hitzeresistenz von Mikroorganismen

Material

Untersucht wurden: 2 Varianten eines Salmonellastammes (*Salmonella typhimurium*), 2 Rotlaufstämme (*Erysipelothrix rhusiopathiae*), 2 Staphylokokkenstämme (*Staphylococcus aureus*), 1 Mikrokokkenstamm (M 53 Niiniyaara), 1 Streptokokkenstamm (*Streptococcus faecalis*) und ein Sporenbildner (*Bac. cereus*). Den Stamm *Salmonella typhimurium* und Stamm I von *Erysipelothrix rhusiopathiae* hat das Institut für Tierhygiene der Universität München zur Verfügung gestellt. Aus dem Salmonellastamm konnten zwei Varianten (I und II) mit unterschiedlicher Hitzeempfindlichkeit gezüchtet werden. Ein weiterer Stamm von *Erysipelothrix rhusiopathiae* wurde am Schlachthof München aus Herzklappenrotlauf isoliert (Stamm II). Die übrigen Keime stammten aus der Sammlung des Instituts. Bei den Streptokokken handelt es sich um einen aus Trockenblutplasma isolierten Stamm. Somit kamen einerseits pathogene, andererseits fleischtechnologisch bzw. hygienisch wichtige Keime zur Untersuchung.

Methodik

Die Erhitzungen wurden bei unterschiedlichen Temperaturen in einem Ultrathermostaten ($\pm 0,5^{\circ}\text{C}$) durchgeführt. Im übrigen war die Methodik den einzelnen Versuchen angepaßt; in den entsprechenden Abschnitten wird darauf noch eingegangen.

1. Einfluß von Natriumpyrophosphat auf die Hitzeresistenz von *Salmonella typhimurium*

Je zwei Reagenzröhrchen mit 10 ml 0,5 % und 1 % Natriumpyrophosphat enthaltender Bouillon wurden mit je 0,1 ml einer 24 Stunden alten Bouillonkultur von *S. typhimurium* beimpft. Als Kontrolle wurde pyrophosphatfreie Bouillon in gleicher Weise beimpft. Nach guter Durchmischung des Inhaltes wurden je ein Röhrchen sofort (nach Vorwärmung auf 37°C), ein anderes nach 24stündiger Bebrütung bei 37°C in einem Ultrathermostaten auf 51°C erhitzt. 2 Minuten nach Beginn der Wärmeeinwirkung wurden mit einer Öse die ersten und dann jede folgende Minute weitere Proben entnommen und auf Nähragar ausgestrichen.

Die Versuche wurden sowohl mit Variante I als auch mit II durchgeführt.

Tabelle 1: Überleben von *S. typhimurium* Variante I nach Erhitzung bei 51°C ohne vorhergehende Bebrütung

Erhitzungszeit in Minuten	Natriumpyrophosphatgehalt des Nährbodens		
	0 %	0,5 %	1 %
1	+++	+++	+++
2	+++	++	+
3	+++	++	-
4	++	+	-
5	+	-	-
6	+	-	-
7	+	-	-
8	+	-	-
9	-	-	-
10	-	-	-

Tabelle 2: Überleben von *S. typhimurium* Variante I nach Erhitzung bei 51°C nach 24stündiger Bebrütung

Erhitzungszeit in Minuten	Natriumpyrophosphatgehalt des Nährbodens		
	0 %	0,5 %	1 %
1	+++	+++	+++
2	+++	+++	++
3	+++	+++	++
4	+++	+++	+
5	+++	++	-
6	+++	+	-
7	+++	+	-
8	++	-	-
9	++	-	-
10	++	-	-
11	+	-	-
12	-	-	-
13	-	-	-

Tabelle 3: Überleben von *S. typhimurium* Variante II nach Erhitzung bei 51° C ohne vorhergehende Bebrütung

Erhitzungszeit in Minuten	Natriumpyrophosphatgehalt des Nährbodens		
	0 ‰	0,5 ‰	1 ‰
1	+++	+++	+++
2	+++	+++	++
3	+++	++	+
4	+++	++	+
5	+++	++	-
6	++	+	-
7	++	+	-
8	++	-	-
9	+	-	-
10	+	-	-
11	+	-	-
12	+	-	-
13	-	-	-
14	-	-	-

Tabelle 4: Überleben von *S. typhimurium* Variante II nach Erhitzung bei 51° C nach 24stündiger Bebrütung

Erhitzungszeit in Minuten	Natriumpyrophosphatgehalt des Nährbodens		
	0 ‰	0,5 ‰	1 ‰
1	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++
3	+++	+++	++
4	+++	+++	÷
5	+++	+++	-
6	+++	++	-
7	+++	++	-
8	+++	+	-
9	+++	+	-
10	++	-	-
11	++	-	-
12	++	-	-
13	+	-	-
14	+	-	-
15	-	-	-
16	-	-	-

Besprechung der Ergebnisse:

In den Erhitzungsversuchen an *S. typhimurium* (Tab. 1 - 4) war die erhebliche Hitzeresistenzminderung durch Natriumpyrophosphat zu bestätigen; sie nahm bei Erhöhung der Konzentration von 0,5 % auf 1 % zu. Die vorhergehende Bebrütung hatte keinen deutlichen Einfluß auf die Thermoresistenz.

2. Einfluß von Natriumpyrophosphat auf die Hitzeresistenz von *Erysipelothrix rhusiopathiae*

Die Versuchsanordnung entsprach den mit *S. typhimurium* vorgenommenen Versuchen. Die Erhitzungstemperatur betrug ebenfalls 51⁰ C. Die Ergebnisse der Erhitzungsversuche mit *E. rhusiopathiae* der Stämme I und II ohne und nach vorhergehender Bebrütung sind in den Tabellen 5 bis 8 zusammengestellt.

Tabelle 5: Überleben von *E. rhusiopathiae* Stamm I nach Erhitzung bei 51⁰ C ohne vorhergehende Bebrütung

Erhitzungszeit in Minuten	Natriumpyrophosphatgehalt des Nährbodens		
	0 %	0,5 %	1 %
1	+++	+++	+++
2	+++	+++	+
3	+++	++	-
4	+++	+	-
5	++	-	-
6	++	-	-
7	++	-	-
8	++	-	-
9	++	-	-
10	+	-	-
11	+	-	-
12	+	-	-
13	+	-	-
14	+	-	-
15	-	-	-
16	-	-	-

Tabelle 6: Überleben von *E. rhusiopathiae* Stamm I nach Erhitzung bei 51°C nach 24stündiger Bebrütung

Erhitzungszeit in Minuten	Natriumpyrophosphatgehalt des Nährbodens		
	0 ‰	0,5 ‰	1 ‰
1	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++
3	+++	+++	++
4	+++	++	+
5	+++	++	-
6	+++	++	-
7	+++	+	-
8	+++	+	-
9	+++	-	-
10	+++	-	-
11	++	-	-
12	++	-	-
13	++	-	-
14	++	-	-
15	++	-	-
16	+	-	-
17	-	-	-
18	-	-	-

Tabelle 7: Überleben von *E. rhusiopathiae* Stamm II nach Erhitzung bei 51°C ohne vorhergehende Bebrütung

Erhitzungszeit in Minuten	Natriumpyrophosphatgehalt des Nährbodens		
	0 %	0,5 %	1 %
1	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++
3	+++	+++	+++
4	+++	+++	++
5	+++	++	++
6	+++	++	++
7	+++	++	+
8	++	++	+
9	++	+	+
10	++	+	+
11	++	+	+
12	++	+	+
13	++	+	+
14	++	+	+
15	++	+	+
16	++	+	-
17	++	+	-
18	+	-	-
19	+	-	-
20	+	-	-
21	+	-	-
22	+	-	-
23	+	-	-
24	+	-	-

Tabelle 8: Überleben von *E. rhusiopathiae* Stamm II nach Erhitzung bei 51° C nach 24stündiger Bebrütung

Erhitzungszeit in Minuten	Natriumpyrophosphatgehalt des Nährbodens		
	0 %	0,5 %	1 %
1	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++
3	+++	+++	+++
4	+++	+++	+++
5	+++	+++	+++
6	+++	+++	+++
7	+++	+++	++
8	+++	+++	++
9	+++	+++	++
10	+++	++	+
11	+++	++	+
12	+++	++	+
13	+++	++	+
14	+++	+	+
15	+++	+	-
16	+++	+	-
17	+++	+	-
18	+++	+	-
19	+++	+	-
20	+++	+	-
21	+++	+	-
22	+++	-	-
23	+++	-	-
24	+++	-	-

Besprechung der Ergebnisse:

In den Erhitzungsversuchen an *E. rhusiopathiae* (Tab. 5 - 8) läßt sich ebenfalls die erhebliche Hitzeresistenzminderung durch Natriumpyrophosphat bestätigen; sie nahm bei Erhöhung der Konzentration von 0,5 % auf 1 % zu. Die vorhergehende Bebrütung hatte keinen deutlichen Einfluß auf die Thermoresistenz. In den bei Stamm II vorgenommenen Versuchen waren in den Kontrollen auch nach Beendigung der Erhitzung noch lebende Keime zu finden, so daß das Ausmaß der Resistenzminderung nicht voll zum Ausdruck kam.

3. Einfluß von Natriumpyrophosphat auf die Hitzeresistenz von Staphylococcus aureus

Je 2 Röhrchen mit 10 ml einer 0m5 % und 1 % Natriumpyrophosphat enthaltenden Bouillon wurden mit je 1 ml einer 24 Stunden alten Staphylokokkenkultur beimpft. Sonst wurde in der gleichen Weise verfahren, wie in den vorherigen Versuchen. Stamm I wurde wegen seiner in einem orientierenden Versuch ermittelten höheren Hitzeresistenz auf 58 C, Stamm II auf 54 C erhitzt. Die Ergebnisse der Erhitzungsversuche mit Staphylococcus aureus Stamm I und II ohne und nach vorhergehender Bebrütung sind in den Tabellen 9 - 12 zusammengestellt.

Tabelle 9:  berleben von Staph. aureus Stamm I nach Erhitzung bei 58 C ohne vorhergehende Bebrütung

Erhitzungszeit in Minuten	Natriumpyrophosphatgehalt des Nährbodens		
	0 %	0,5 %	1 %
1	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++
3	+++	+++	++
4	+++	+++	+
5	+++	+++	-
6	+++	+++	-
7	+++	+++	-
8	+++	++	-
9	+++	++	-
10	+++	++	-
11	+++	+	-
12	+++	+	-
13	+++	+	-
14	+++	-	-
15	+++	-	-
16	++	-	-
17	++	-	-
18	++	-	-
19	++	-	-
20	+	-	-
21	+	-	-
22	-	-	-
23	-	-	-
24	-	-	-

Tabelle 10: Überleben von Staph. aureus Stamm I nach Erhitzung bei 58°C nach 24stündiger Bebrütung

Erhitzungszeit in Minuten	Natriumpyrophosphatgehalt des Nährbodens		
	0 ‰	0,5 ‰	1 ‰
1	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++
3	+++	+++	+++
4	+++	+++	+++
5	+++	+++	++
6	+++	+++	++
7	+++	+++	++
8	+++	++	+
9	+++	+	-
10	+++	+	-
11	+++	+	-
12	+++	-	-
13	+++	-	-
14	+++	-	-
15	+++	-	-
16	++	-	-
17	++	-	-
18	++	-	-
19	++	-	-
20	+	-	-
21	+	-	-
22	-	-	-
23	-	-	-
24	-	-	-

Tabelle 11: Überleben von Staph. aureus Stamm II nach Erhitzung bei 54° C ohne vorhergehende Bebrütung

Erhitzungszeit in Minuten	Natriumpyrophosphatgehalt des Nährbodens		
	0 %	0,5 %	1 %
1	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++
3	+++	+++	+++
4	+++	+++	++
5	+++	+++	++
6	+++	+++	+
7	+++	++	+
8	+++	++	-
9	+++	++	-
10	+++	+	-
11	+++	+	-
12	+++	-	-
13	+++	-	-
14	+++	-	-
15	+++	-	-
16	++	-	-
17	++	-	-
18	++	-	-
19	++	-	-
20	++	-	-
21	+	-	-
22	+	-	-
23	+	-	-
24	-	-	-

Tabelle 12: Überleben von Staph. aureus Stamm II nach Erhitzung bei 54°C nach 24stündiger Bebrütung

Erhitzungszeit in Minuten	Natriumpyrophosphatgehalt des Nährbodens		
	0 ‰	0,5 ‰	1 ‰
1	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++
3	+++	+++	+++
4	+++	+++	+++
5	+++	+++	+++
6	+++	+++	+++
7	+++	+++	+++
8	+++	+++	+++
9	+++	+++	++
10	+++	+++	++
11	+++	+++	+
12	+++	++	+
13	+++	++	+
14	+++	++	-
15	+++	++	-
16	+++	++	-
17	+++	+	-
18	+++	+	-
19	+++	+	-
20	+++	+	-
21	+++	+	-
22	+++	-	-
23	+++	-	-
24	++	-	-

Besprechung der Ergebnisse:

Wie aus den Tabellen 9 - 12 zu entnehmen ist, werden auch Staphylokokken in der Hitzeresistenz durch Natriumpyrophosphat erheblich beeinflusst, wobei 1 ‰ wirksamer ist als 0,5 ‰. In den bei 54°C vorgenommenen Versuchen waren in den Kontrollen auch nach Beendigung der Erhitzung noch lebende Keime zu finden, so daß das Ausmaß der Resistenzminderung nicht voll zum Ausdruck kam.

4. Einfluß von Natriumpyrophosphat auf die Hitzeresistenz einer Micrococcus-
Art (Stamm M 53 Niinivaara)

2 Reagenzröhrchen mit je 10 ml einer 1 % Natriumpyrophosphat enthalten-
den Bouillon wurden mit einer 24 Stunden alten Kultur beimpft und zusammen
mit pyrophosphatfreien Kontrollen ohne und nach vorhergehender Bebrütung
bei 56° C erhitzt. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 13 und 14 zusammen-
gestellt.

Tabelle 13: Überleben von M 53 nach Erhitzung bei 56° C ohne vorherge-
hende Bebrütung

Erhitzungszeit in Minuten	Natriumpyrophosphatgehalt des Nährbodens	
	0 %	1 %
1	+++	+++
2	+++	+++
3	+++	++
4	+++	++
5	++	+
6	+	-
7	+	-
8	-	-
9	-	-
10	-	-

Tabelle 14: Überleben von M 53 nach Erhitzung bei 56°C nach 24-stündiger Bebrütung

Erhitzungszeit in Minuten	Natriumpyrophosphatgehalt des Nährbodens	
	0 %	1 %
1	+++	+++
2	+++	+++
3	+++	++
4	+++	+
5	+++	+
6	+++	+
7	++	+
8	++	-
9	++	-
10	++	-
11	++	-
12	++	-
13	++	-
14	+	-
15	+	-
16	-	-
17	-	-
18	-	-

Besprechung der Ergebnisse:

Aus Tabelle 13 und 14 geht hervor, daß auch diese fleischtechnologisch wichtigen Keime durch Natriumpyrophosphat in ihrer Hitzeresistenz beeinflusst werden, und zwar betrug die Hitzeresistenzverminderung ohne vorhergegangene Bebrütung in pyrophosphathaltigem Milieu 2 und nach erfolgter Bebrütung 8 Minuten.

5. Einfluß von Natriumpyrophosphat auf die Hitzeresistenz von Streptococcus faecalis

1 ml einer 24 Stunden alten Kultur wurde in 10 ml einer 1 % Natriumpyrophosphat enthaltenden Bouillon verimpft und ohne bzw. nach vorheriger Bebrütung bei 58° C erhitzt. Die Ergebnisse der Erhitzungsversuche mit Str. faecalis ohne und nach vorheriger Bebrütung sind in den Tabellen 15 und 16 zusammengestellt.

Tabelle 15: Überleben von Str. faecalis nach Erhitzung bei 58° C ohne vorhergehende Bebrütung

Erhitzungszeit in Minuten	Natriumpyrophosphatgehalt des Nährbodens	
	0 %	1 %
1	+++	+++
2	+++	+++
3	+++	+++
4	+++	+++
5	+++	++
6	+++	++
7	+++	++
8	+++	++
9	+++	+
10	+++	+
11	+++	+
12	+++	+
13	+++	+
14	+++	+
15	+++	-
16	++	-
17	++	-
18	++	-
19	++	-
20	++	-
21	+	-
22	+	-
23	+	-
24	+	-

Tabelle 16: Überleben von *Str. faecalis* nach Erhitzung bei 58°C nach 24-stündiger Bebrütung

Erhitzungszeit in Minuten	Natriumpyrophosphatgehalt des Nährbodens	
	0 ‰	1 ‰
1	+++	+++
2	+++	+++
3	+++	+++
4	+++	+++
5	+++	+++
6	+++	+++
7	+++	+++
8	+++	+++
9	+++	+++
10	+++	++
11	+++	++
12	+++	++
13	+++	++
14	+++	++
15	+++	++
16	+++	+
17	+++	+
18	+++	+
19	+++	-
20	++	-
21	++	-
22	++	-
23	++	-
24	+	-

Besprechung der Ergebnisse:

Die Erhitzungsversuche mit *Str. faecalis* (Tab. 15 und 16) hatten ähnliche Ergebnisse wie die vorhergehenden Versuche. Da in den Kontrollen auch nach Beendigung der Erhitzung immer noch lebende Keime vorhanden waren, ist die Resistenzminderung noch stärker, als aus den Tabellen entnommen werden kann.

6. Einfluß von Natriumpyrophosphat auf die Hitzeresistenz von *Bac. cereus*

Schon in Vorversuchen war festzustellen, daß unversportete Kulturen in pyrophosphathaltigem Medium absterben. Zum Versuch wurde eine 24 Stunden alte Kultur verwendet. Je 1 ml dieser Kultur wurde in 10 ml einer 1 % Natriumpyrophosphat enthaltenden bzw. pyrophosphatfreien Bouillon verimpft und bei 57°C erhitzt. Die Erhitzungsversuche, die ohne vorherige Bebrütung angestellt wurden, brachten keine verwertbaren Ergebnisse, da die Keimkonzentration offenbar so gering war, daß einerseits nach kurzer Erhitzungszeit kein Wachstum mehr zu beobachten war, während in der gleichen Versuchsreihe nach längerer Erhitzungsdauer vereinzelt wieder keimhaltige Proben gefunden wurden. Die Ergebnisse der Erhitzungsversuche nach 24stündiger Bebrütung sind in Tabelle 17 zusammengestellt.

Tabelle 17: Überleben vegetativer Zellen von *Bac. cereus* nach Erhitzung bei 57°C nach 24stündiger Bebrütung

Erhitzungszeit in Minuten	Natriumpyrophosphatgehalt des Nährbodens	
	0 %	1 %
1	++	-
2	++	-
3	++	-
4	++	-
5	++	-
6	++	-
7	+	-
8	+	-
9	+	-
10	+	-
11	+	-
12	+	-
13	+	-
14	+	-
15	+	-
16	+	-

Besprechung der Ergebnisse:

Im Gegensatz zu den bisherigen Versuchen mit anderen Keimen wurde *Bac.*

cereus offenbar schon durch die Bebrütung in pyrophosphathaltigem Medium so beeinflusst, daß keine lebenden Keime mehr vorhanden waren, während seine Sporen, wie sich in Vorversuchen mit älteren Kulturen ergeben hatte, durch Natriumpyrophosphat nicht beeinflusst werden.

II. Einfluß von Phosphatfibrisol und Natriumzitat auf das Überleben der Keime bei der Herstellung von Trockenblutplasma

Frisches Rinderblut wurde zur Gerinnungshemmung teils mit Phosphatfibrisol (besteht zu 60 % aus Polyphosphaten), teils mit Natriumzitat versetzt und das Plasma nach Ausschleudern der Blutkörperchen mit einer dichten, homogenisierten Kultur von *Mycobact. phlei* beimpft; je eine Hälfte der Proben wurde mit 0,5 % Ammoniak versetzt. Nach 18 (Phosphatplasma) bzw. 22 Stunden (Zitratplasma) wurden die Proben am 26. 2. 1959 im Sprühturm getrocknet. Das Trockenplasma wurde dann im Laufe von 6 Monaten 7mal auf das Vorhandensein von Mycobakterien untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 18 zusammengestellt.

Tabelle 18: Kultureller Nachweis von *Mycobact. phlei* in Blutplasmaproben, die mit *Mycobact. phlei* beimpft und am 26. 2. 1959 sprühgetrocknet wurden

Unter- suchungs- daten	Phosphatplasma				Zitratplasma			
	ohne		mit		ohne		mit	
	Ammoniak				Ammoniak			
24. 3.	(8)	0	(7)	0	(8)	8	(8)	3
9. 4.	(4)	0	(4)	0	(4)	3	(4)	0
17. 4.	(4)	2	(4)	0	(4)	2	(4)	1
23. 4.	(16)	6	(16)	3	(16)	9	(16)	6
14. 5.	(16)	4	(16)	0	(13)	2	(16)	1
5. 6.	(16)	8	(16)	2	(16)	9	(16)	3
23. 9.	(8)	0	(8)	0	(8)	1	(8)	0
Insgesamt	(72)	20	(71)	5	(69)	34	(72)	14

Die in Klammern stehenden Zahlen bedeuten die Anzahl der jeweils bzw. insgesamt beimpften Nährböden, während die danebenstehenden Zahlen die Anzahl der Nährböden mit positivem Nachweis von Mycobakterien darstellen.

Besprechung der Ergebnisse:

Der Versuch zeigt, daß im Phosphatplasma die Keime zunächst stark gehemmt werden. Nach einiger Zeit "regeneriert" die Flora, um aber schließlich ganz abzusterben. Die bakteriostatische bzw. bakterizide Wirkung wurde durch die Behandlung mit Ammoniak deutlich begünstigt. Zwar zeigten sich auch in den mit Zitratplasma durchgeführten Versuchen parallele Ergebnisse, doch ist die im Phosphatplasma auftretende Beeinflussung der Keime weitaus stärker.

III. Einfluß von Natriumpyrophosphat auf lebende Keime ohne Hitzeeinwirkung

Die bisherigen Versuche hatten ergeben, daß Natriumpyrophosphat und Phosphatfibrisol die Hitzeabtötung von Mikroorganismen begünstigt und daß z. B. die vegetativen Formen von *Bac. cereus* auch ohne Temperatureinwirkung abgetötet werden. Es sollte nun noch geprüft werden, ob auch andere Keime ohne Hitzeeinwirkung durch Natriumpyrophosphat beeinflusst werden. Als Testkeim wurde *Staph. aureus* verwendet.

1. Lebensfähigkeit von *Staph. aureus* in natriumpyrophosphathaltiger Nährbouillon

Zu je 10 ml 0,5 % und 1 % Natriumpyrophosphat enthaltender Nährbouillon wurden je 0,1 ml 24 Stunden alte Staphylokokkenkultur pipettiert, die beimpfte Bouillon gut durchgemischt und bei 37° C im Brutschrank bebrütet. Nach 4, 8 und 24 Stunden wurden Proben auf Nähragar ausgestrichen. Zur Untersuchung kamen die zwei im Erhitzungsversuch verwendeten Stämme (I und II). Die Ergebnisse des Versuchs sind in Tabelle 19 dargestellt.

Tabelle 19: Lebensfähigkeit von Staph. aureus in natriumpyrophosphathaltiger Nährbouillon

		Natriumpyrophosphatgehalt der Nährbouillon		
		0 ‰	0,5 ‰	1 ‰
Bebrütungs- dauer in Stunden				
Stamm I	4	+++	+++	+++
	8	+++	+++	++
	24	+++	+	-
Stamm II	4	+++	+++	+++
	8	+++	+++	+
	24	+++	+	-

Besprechung der Ergebnisse:

Nach Tabelle 19 war Staph. aureus in 1 ‰iger Natriumpyrophosphatbouillon nach 24 Stunden abgetötet. Auch bei 0,5 ‰iger Konzentration war nach 24 Stunden eine deutliche Wirkung des Phosphates zu erkennen. In den Erhitzungsversuchen wurden die Keime z. T. zwar auch bei gleichen Konzentrationen 24 Stunden bebrütet, jedoch war die inokulierte Keimmenge etwa zehnfach stärker, so daß die abtötende Wirkung dort nur bei den Versuchen mit Bac. cereus zum Ausdruck kam, während in den übrigen Versuchen scheinbar keine Abtötung erfolgte. Wenn keine quantitative Verminderung registriert wurde, so wohl auch deshalb, weil die Überlebensrate nur nach "geringem" bis "starkem" Keimgehalt (+ bis +++) beurteilt wurde.

2. Bestimmung der Lebensfähigkeit von Staph. aureus bei Anwesenheit von Natriumpyrophosphat mittels Agardiffusionstest (Lochtest)

Je 20 ml verflüssigten, auf 45° C abgekühlten Agars wurden mit 1 ml einer 24 Stunden auf Bouillon gewachsenen Staphylokokkenkultur gemischt und in Petrischalen ausgegossen. Nach dem Erstarren des Agars wurden auf jeder Platte drei Löcher von 10 mm Durchmesser ausgestanzt und mit je einem Tropfen Agar "versiegelt".

a) Wirkung des Natriumpyrophosphates auf wachsende Keime

In die drei Löcher wurden nun abgestuft je 5 Tropfen 1 %ige, 5 %ige bzw. 10 %ige Natriumpyrophosphatlösung pipettiert, die Platte dann 24 Stunden bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt und anschließend 48 Stunden bei 37°C bebrütet.

Ergebnis:

1 % Natriumpyrophosphat:	Keine deutliche Veränderung in der Umgebung der ausgestanzten Öffnung.
5 % Natriumpyrophosphat:	9,5 mm breiter Hemmhof um die ausgestanzte Öffnung.
10 % Natriumpyrophosphat:	11,0 mm breiter Hemmhof um die ausgestanzte Öffnung.

b) Wirkung des Natriumpyrophosphates auf bereits gewachsene Kulturen

Die wie im vorherigen Versuch hergestellte Platte wurde zunächst 24 Stunden bei 37°C bebrütet, anschließend mit den drei verschiedenen konzentrierten Phosphatlösungen beschickt und dann 24 Stunden bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt.

Ergebnis:

1 % Natriumpyrophosphat:	6,1 mm breiter Hof um die ausgestanzte Öffnung.
5 % Natriumpyrophosphat:	9,0 mm breiter Hof um die ausgestanzte Öffnung.
10 % Natriumpyrophosphat:	15,1 mm breiter Hof um die ausgestanzte Öffnung.

Aus den entstandenen Höfen wurde dann mit einer Öse Material entnommen und auf Agarnährböden ausgestrichen und in Bouillon verimpft. Auf den Agarnährböden konnte auch nach 48stündiger Bebrütung kein Wachstum festgestellt werden, die Bouillon war nach ebenso langer Bebrütung nicht getrübt und es ließ sich auch kein Wachstum nachweisen.

Besprechung der Ergebnisse:

Es zeigte sich erneut, daß Natriumpyrophosphat das Keim-Wachstum von bestimmten Konzentrationen an verhindert, was in den Hemmhöfen der zunächst im Kühlschrank gelagerten und anschließend bebrüteten Platten zum Ausdruck kommt.

In der anderen Versuchsreihe wurde deutlich, daß Natriumpyrophosphat bakterizide Wirkung hat und gleichzeitig, vermutlich durch Quellung (eventuell "unbegrenzter" Art), das Lichtbrechungsvermögen der Bakterien ändert. Dadurch bilden sich den Hemmhöfen gleiche Höfe.

3. Quellungsversuch

2400 ml einer 60 Stunden alten Staphylokokkenbouillonkultur wurden zentrifugiert, dreimal mit Phosphatpufferlösung gewaschen und in 24 ml Phosphatpufferlösung aufgeschwemmt. Von dieser Aufschwemmung wurden je 2 ml zu je 8 ml der in Tabelle 20 aufgeführten Flüssigkeiten bzw. Lösungen, die in Trommsdorfröhrchen abgefüllt waren, hinzupipettiert und gut durchgemischt. 2 Minuten nach der Zugabe der Bakterienaufschwemmung wurden die Röhrchen 10 Minuten zentrifugiert. An der Höhe des in den Kapillaren der Trommsdorfröhrchen abgesetzten Sedimentes war eine eventuelle Quellung zu erkennen. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tabelle 20 zusammengestellt.

Tabelle 20: Quellungsversuch

Substrat	Zusatz	Ergebnis
Bouillon	-	keine Quellung
Bouillon	1 % Natriumpyrophosphat	starke Quellung
Bouillon	1 % Natriumpyrophosphat + 2 % Kochsalz	fraglich
Bouillon	1 % Natriumpyrophosphat + 2 % Nitritpökelsalz	fraglich
Bouillon	2 % Kochsalz	fraglich
Bouillon	2 % Nitritpökelsalz	fraglich
Phosphatpuffer- lösung	-	keine Quellung
Phosphatpuffer- lösung	1 % Natriumpyrophosphat	starke Quellung
Phosphatpuffer- lösung	1 % Natriumpyrophosphat + 2 % Kochsalz	fraglich
Phosphatpuffer- lösung	1 % Natriumpyrophosphat + 2 % Nitritpökelsalz	fraglich
Phosphatpuffer- lösung	2 % Kochsalz	fraglich
Phosphatpuffer- lösung	2 % Nitritpökelsalz	fraglich

"Starke Quellung" lag vor, wenn die Höhe des Sedimentes im Vergleich zur Kontrolle um mehr als einen Teilstrich der Kapillarenggraduierung (0,01 ml) gestiegen war. Bei den fraglichen Ergebnissen war nur eine undeutliche Vermehrung des Sedimentes gegeben.

Besprechung der Ergebnisse:

Starke Quellung war nur bei den Versuchsansätzen festzustellen, die Natrium-pyrophosphat ohne weitere Zusätze enthielten. Sofern noch weitere Zusätze vorhanden waren, wurde entweder die starke Quellung kompensiert oder ein Teil der Keime peptisiert. Da beim Zentrifugieren der Trommsdorfröhrchen sehr viel Bruch zu verzeichnen war, wurden die Versuche nicht weiter fortgesetzt. Es wäre noch zu prüfen gewesen, ob sich unter bestimmten Bedingungen in der überstehenden Flüssigkeit mehr Eiweiß löst.

D. DISKUSSION

Die von Kotter und Terplan (14) sowie von Wollmann (35) beschriebene hitzeresistenzmindernde Wirkung des Natriumpyrophosphates auf Mikroorganismen konnte bei den bereits getesteten Keimen (*Salmonella typhimurium* und *Erysipelothrix rhusiopathiae*) bestätigt und bei verschiedenen anderen, bisher nicht geprüften, hygienisch oder fleischtechnologisch interessanten Keimen (*Staphylococcus aureus*, *Micrococcus* M 53, *Streptococcus faecalis* und *Bac. cereus*) ebenfalls festgestellt werden. Alle untersuchten Bakterien wurden in ihrer Widerstandsfähigkeit gegen Hitze durch Natriumpyrophosphat stark beeinträchtigt.

In den erwähnten Arbeiten (14, 35) wurde vermutet, daß die verminderte Hitzeresistenz auf eine Quellung des Bakterienprotoplasmas zurückzuführen ist. Gequollenes Eiweiß ist wasserreicher und daher einer Hitzedenaturierung rascher zugänglich. Die verstärkte Quellung konnte in Trommsdorfröhrchen demonstriert werden. Durch Zusatz von Kochsalz war dieser Effekt weitgehend zu kompensieren, was auch in Einklang mit der Beobachtung steht (14, 35), daß die Hitzeresistenzverminderung in Anwesenheit von Kochsalz weitgehend aufgehoben wird.

Es war anzunehmen, daß Pyrophosphate nicht nur die Hitzeresistenz, sondern auch die gesamten Lebensäußerungen der Keime stören. Tatsächlich war in beimpfter pyrophosphathaltiger Bouillon eine ständige Abnahme der lebensfähigen Keime zu beobachten. Außerdem konnte im Agardiffusionstest gezeigt werden, daß Pyrophosphat nicht nur das Wachstum der Testkeime (*Staphylokokken*) unterdrückt, sondern diese sogar abtötet. Bei der Abtötung wurden die Keime auch im Lichtbrechungsvermögen verändert. Offenbar war in den wirksamen Diffusionsbereichen eine Lysis der Keime erfolgt, weil hemmhofartige Aufhellungen auf den dort sterilen Nährböden entstanden waren.

Die Beeinflussung des Stoffwechsels von Mikroorganismen durch Pyrophosphat liegt ebenfalls nahe, da dieses als Inhibitor der Succinodehydrogenase bekannt ist (10). Eine konkrete Prüfung dieser Frage durch Stoffwechselversuche, die aus technischen Gründen nicht durchführbar waren, wäre noch erforderlich.

Bei der Trocknung von Blutplasma ergab sich, daß die geprüften *Mycobakterien* im Phosphatplasma stärker geschädigt werden als im Zitratplasma und

nach kurzer Erholung schließlich auch ganz absterben, während bei Zitratplasma auch nach 6 Monaten noch lebende Mycobakterien nachgewiesen werden konnten. Durch diese Versuche ist gezeigt worden, daß die hitzeresistenzmindernde Wirkung der Polyphosphate auch unter praktischen Bedingungen zur Geltung kommt. Damit wurde auch deutlich, daß Phosphatplasma aus hygienischen Gründen dem Zitratplasma vorzuziehen ist, zumal, wie früher schon berichtet wurde (13), auch die Haltbarkeit des mit Phosphaten gewonnenen Blutplasmas der des Zitratplasmas überlegen ist. Auch die Bedeutung der von Lerche und Hepp (16) beschriebenen Ammoniakbehandlung des für die Trocknung vorgesehenen Blutplasmas ist in diesen Versuchen wieder bestätigt worden.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Frühere Untersuchungen über die Schwächung der Hitzeresistenz bei Salmonellen und Rotlaufkeimen durch Natriumpyrophosphat konnten bestätigt und die gleiche Wirkung auch bei Staphylokokken, Mikrokokken, Streptokokken und Sporenbildnern beobachtet werden.
2. Natriumpyrophosphat wirkt auch bakterizid.
3. Die hitzeresistenzmindernde und bakterizide Wirkung des Natriumpyrophosphates dürften im wesentlichen auf eine Quellung des Protoplasmas zurückzuführen sein, die experimentell demonstriert werden konnte.
4. In einem unter industriellen Bedingungen durchgeführten Versuch konnte gezeigt werden, daß Mycobakterien bei der Trocknung in polyphosphathaltigem (Phosphatfibrisol) Blutplasma leichter abgetötet werden, als in zittrathaltigem Medium.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. Amaha, M. und K.J. Sakaguchi: Effects of carbohydrates, proteins and bacterial cells in the heating media on the heat resistance of *Clostridium sporogenes*.
J. Bacter. 68 (1954), 338;
2. Andrejef, N. und E. Gastef: Die kolloidale Natur der Mikroben.
Mikrobiologischesky 2 (1925), 1;
3. Beauverie, J.: Nouvelles expériences sur l'influence qu'exerce la pression osmotique sur les bactéries.
C. r. Acad. des Sciences T. 163 (1916), 769;
4. Bergmann, G. und G. Seidl: Über die Wirkung von Kochsalz auf Salmonellen.
Arch. Lebensmittelhyg. 8 (1957), 30;
5. Dedić, und Schulze: Die Hitzeresistenz von *Listeria monocytogenes* in Milch.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 70 (1957), 231;
6. Eisenberg, Ph.: Über die Wirkung von Salzen und Ionen auf Bakterien.
Zbl. Bakter. I. 82 (1919), 69 - 208;
7. vor dem Esche, P.: Der Einfluß der Elektrolyte auf den Quellungs-
zustand von Bakterien.
Arch. Hyg. Bakt. 137 (1953), 26, 487;
8. Esty, L.R. und K.F. Meyer: The heat resistance of the spores of *B. botulinus*
and allied anaerobes.
J. Inf. Diss. 31 (1922), 650;
9. Gorini, D.C.: Weitere Untersuchungen über die Biologie der
Milchsäurebakterien.
Zbl. Bakter. II. 53 (1921), 284;
10. Hoffmann- Osterhof, O.: Enzymologie,
Springer-Verlag Wien 1954, S. 498;
11. Hückel, R.: Über die Abhängigkeit der Hitzeresistenz verschiede-
ner Bakterien - Suspensionen von ihrer Dichte.
Zschr. Hyg. 106 (1926), 730;

12. Kelch, F. und X. Bühlmann: Der Einfluß handelsüblicher Phosphate auf das Wachstum von Mikroorganismen. Fleischwirtschaft 5 (1958), 325;
13. Keller, H.: Fibrisolzusatz. Fleischwirtschaft 23 (1942), 61;
14. Kotter, L. und G. Terplan: Zur Änderung der Lebensfähigkeit von Mikroorganismen durch den Einfluß von Salzen. Arch. Lebensmittelhyg. 3 (1958);
15. Lang, O.W. und S.J. Dean: Heat resistance of Clostridium botulinum in canned sea foods. J. Inf. Diss. 55 (1934), 39;
16. Lerche, M. und L. Hepp: Konservierungsversuche von Blut, Blutplasma und Blutkörperchen mit Ammoniak. Tierärztl. Rundsch. 47 (1941), 527, 539;
17. Levi della Vida, M.: Vitalità dei germi patogeni in alcune soluzioni saline ed in alcune potabili e minerali. Anal. d'igiene sperimentale, Vol. XIX. F. III. (1940), 499;
18. Levine, A.S. und C.R. Fellers: Action of acetic acid on food spoilage microorganisms. J. Bacter. 39 (1940), 499;
19. Orskov, S.L.: Versuch über Thermoresistenz in verschiedenen Nährböden. Thermoresistenz von Kulturen verschiedenen Alters. (Paratyphus). Zschr. Hyg. 105 (1926), 317;
20. Paul, Th., G. Bierstein und A. Reuss: Beiträge zur Kinetik der Giftwirkung von gelösten Stoffen; Einfluß der Neutralsalze und der Temperatur auf die Desinfektionsgeschwindigkeit von Säuren. Biochem. Zschr. 29 (1910), 239;
21. Peju, G. und H. Rajat: Variation morphologique et biologique des bactéries dans les milieux salés. Journ. biol. et path. génér. T. VIII, 5, 868;

22. Petri : zit. nach Preisz (23);
23. Preisz, H. von: Rotlauf der Schweine. Handbuch der pathologischen Mikroorganismen.
Bd. VI/1 (1929), S. 449;
24. Praefke: Über die entwicklungshemmende Wirkung dreier Hacksalze.
Hyg. Rundschau 15 (1908);
25. Precht, H., J. Christophersen und H. Hensel: Temperatur und Leben.
Springer-Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1955, S. 237-253;
26. Reimers, H.: Über die keimtötende Kraft des Kochsalzes gegenüber dem Baz. paratyphosus B und dem Baz. enteritidis Gärtner.
Fleisch- und Milchhyg. 23 (1912), 6, 29;
27. Remlinger, P.: Le salage des échantillons d'eau destinés à l'analyse bactériologique.
C. r. Soc. Biol. T. 70 (1911), 64;
28. Rodenbeck, H.: Über die thermische Sterilisation von wasserfreien Mineralien und die Hitzeresistenz einiger Bakterien in solchen.
Arch. Hyg. 109 (1933), 67;
29. Russels, H.L. und E. G. Hastings: On the increased resistance of bacteria in milk pasteurized in contact with the air.
Zbl. Bakter. II 53 (1921), 284;
30. Schultz, J.H. und H. Ritz: Die Thermoresistenz junger und alter Colibazillen.
Zbl. Bakter. I, 54 (1910), 283;
31. Slesarewski, W.: Über die Widerstandsfähigkeit der Bakterien bei Erhitzung derselben in Fettstoffen.
Fleisch- und Milchhyg. 42 (1931), 30;
32. Stritzinger, H.: Untersuchungen über die Tenazität von Tuberkelbakterien in Kochwürsten.
Vet. med. Diss. Gießen 1953;

33. Viljoen, H. A.: Heat resistance studies.
J. Inf. Diss. 39 (1926), 286;
34. White, H. R.: The heat desinfection of *Streptococcus lactis*.
Proc. Soc. Appl. Bacter. 15 (1952), 8;
35. Wollmann, E.: Untersuchungen über die Beeinflussung der
Hitzeresistenz von Bakterien durch Salze.
Vet. med. Diss. München 1957;
36. Zuccaro, J. B., J. J. Powers, R. E. Morse und W. C. Mills:
Thermal death times of yeast in oil and
movement of the yeast between the oil
and water places in french dressing.
Food Res. 16 (1951), 30.

Herrn Professor Dr. K o t t e r danke
ich herzlichst für die Überlassung des
Themas.

Ebenso danke ich ihm und Herrn
Dr. T e r p l a n für die mir gewährte
Anleitung und Unterstützung.

L e b e n s l a u f

Am 5. Januar 1930 wurde ich als Sohn des Dipl. -Landwirtes Karl Wirz und dessen Ehefrau Wilma, geb. Schaal, in Rockenhausen/Pfalz geboren. 1936 trat ich in die Seminarübungsschule in Kaiserslautern ein. Nach deren Auflösung besuchte ich von 1937 bis 1940 die Volksschule in Kaiserslautern und anschließend das dortige humanistische Gymnasium. 1949 legte ich die Reifeprüfung ab. 1951 begann ich in München das Studium der Tiermedizin und legte nach 9 Semestern dort die tierärztliche Prüfung ab. Im Sommer 1956 bekam ich die Approbation als Tierarzt.

